

モルモット小腸における糖輸送系の性質-特に刷子縁膜糖輸送と輸送電位の関係-

著者	鈴木 裕一
号	772
発行年	1975
URL	http://hdl.handle.net/10097/19062

氏 名（本籍）	すず 鈴 き 木 ゆう 裕 いち 一
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 7 7 2 号
学位授与年月日	昭 和 5 0 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科専門課程	東北大学大学院医学研究科 (博士課程) 生理学系専攻
学 位 論 文 題 目	Sugar transport in guinea pig small intestine. Sugar influx across the brush border membrane and sugar-transport potential. (モルモット小腸における糖輸送系の性質 — 特に刷子縁膜糖輸送と輸送電位の関係 —)

(主 査)

論文審査委員 教授 星 猛 教授 平 則 夫

教授 田 崎 京 二

論文内容要旨

〔序論〕 小腸における糖，アミノ酸の吸収は刷子縁膜における Na^+ 依存性の担体性能動輸送機構によることが知られている。近年この種の Na^+ 依存性能動輸送機構の存在が多くの細胞と基質に関して明らかになってきており，その上り坂輸送は Na^+ の細胞内への下り坂輸送との連結によるエネルギーの移動によって実現されているということが多くの研究者の認める所となっているが，その細胞機序，膜における担体輸送の機序については不明の点が多い。また小腸の研究に従来用いられているラット，ハムスターは耐久性が悪く長時間にわたる定量的研究には不適である。一方モルモットは強い耐久性を有することが我々の予備実験で明らかになったので，本研究ではこのモルモットを用い Na^+ 依存性単糖能動輸送の基本的性質を明かにし，次いでこの Na^+ 依存性能動輸送に特異的な現象である糖輸送電位と刷子縁膜における糖フラックスとの関係を明かにし，刷子縁膜における糖と Na^+ のフラックスの相互関係について考察した。

〔方法〕 成熟したモルモットよりウレタン腹腔内麻酔下で摘出した小腸を，室温酸素化リンゲル液で充分洗滌した後，特別に加工したポリエチレン管に結紮し固定する（面積 2 cm^2 ）。ポリ管の下端は盲端にし，壁には6個の小孔をあけ漿膜側が管内液と接するようにした。この標本を 20 ml の外液（粘膜側液）に浸した。粘膜側液中加入した試験糖のとりこみ，即ち刷子縁膜を通ってのフラックスを測定した。フラックス測定は ^{14}C -糖をトレーサーとして加え 37°C 5分間のとりこみ量より求めた。細胞外スペースは ^3H -マンニトールより求めその都度補正した。粘膜側と漿膜側の間の電位はKCl寒天ブリッジ，カロメル電極を介して導出し，高入力抵抗高感度直流式記録計で記録，測定した。本実験で用いた基本リンゲルは Na^+ を 50 mEq/l にとり（浸透圧はマンニトールで補正）主陰イオンは SO_4^{2-} とした。

〔結果〕 ①糖輸送機能の部位差：空腸及び回腸を10等分し（上よりI～X）D-ガラクトースのフラックスを求めると，空腸に比べて回腸は2倍ほど高い。以下の実験は主としてⅦ～Ⅹの部分を用いた。②糖フラックスの Na^+ 依存性：D-ガラクトース(Gal)，D-グルコース(Glu)ともに無 Na^+ 液中ではマンニトールのとりこみと等しく，フロリジンで抑制した時の値とも等しい。外液 Na^+ 濃度を上昇させると著しいフラックスの上昇が見られる。即ちこれらの糖は強い Na^+ 依存性を示し，無 Na^+ 液中ではほとんどとりこまれないことがわかる。一方果糖は無 Na^+ 液中でも，高 Na^+ 液中でもほとんど差のない一定のとりこみが見られた。以下主としてGalを用いて Na^+ 依存性輸送の性質を観察した。③糖の初期内向きフラックスと外液糖濃度の関係：Galのとりこみは少なくとも5分間は直線的に増加するので，その傾斜より初期内向きフラックス(J_s)を求めこれと外液糖濃度との関係をみると，両者の間にはMichaelis-Menten型の飽和する関係がみられ

た。Gal と Glu は V_{max} が一致し両者は共通の担体で輸送されていると考えられる。④糖輸送電位と J_s の関係：Gal, Glu の輸送に伴って小腸壁内外に漿膜側が正の方向に増大する電位変化が発生する(糖輸送電位, ΔPD_s)。Na⁺依存性を示さない果糖の輸送に伴っては発生しない。この ΔPD_s の振幅もまた J_s と同様外液中の糖濃度に依存し, Michaelis—Menten 型の飽和特性を示す。 J_s と ΔPD_s より求めた K_m は等しく両者間には一定の比例関係があり, その比は Gal と Glu で同一であった。一方外液の Gal 濃度を一定 (5 mM) にし, 外液 Na⁺ 濃度を増加させて両者の関係をみると, J_s は次第に増加し, 高 Na⁺ 液で飽和する傾向を示すが, ΔPD_s は 20 ~ 30 mM Na⁺ で極大となり, J_s と平行しない。しかし単純に外液 Na⁺ 濃度上昇に伴う液の電導度変化分の補正を試みると, ΔPD_s と Na⁺ 濃度との関係は J_s と Na⁺ 濃度との関係とまったく平行になり, その比は Na⁺ 濃度によらず一定となる。⑤フロリジンの効果：フロリジン存在下で ΔPD_s は V_{max} が変わらず K_m が上昇し, 競合抑制がみられる。

〔結論及び考察〕 モルモット小腸刷子縁膜には外液 Na⁺ に依存性を示す Glu, Gal に共通の輸送担体と, 果糖に特異性を持つ非 Na⁺ 依存性の輸送担体の少なくとも 2 種が存在する。モルモットの糖輸送系はラット, ハムスターと異なり回腸で最もよく発達しており, この分布パターンは草食性に関係のあることと思われる。 ΔPD_s は Na⁺ 依存性の糖輸送に伴って発生し, 非 Na⁺ 依存性の果糖輸送に伴っては発生しない。糖輸送電位は刷子縁膜での糖輸送に連結した Na⁺ の細胞内方向への流れによって発現するものと考えられる。 ΔPD_s と J_s の比が外液 Na⁺ 濃度が一定の時は糖の種類によらず一定であること, Na⁺ 濃度が変化しても液電導度変化分の補正によって一定となることは, 糖分子と Na⁺ が常に一定の連結比で刷子縁膜で輸送されていることを示唆する。また無 Na⁺ 液では細胞内とりこみが見られないことは, 刷子縁膜における Glu, Gal の輸送は三重複合体 (担体, 糖, Na⁺) の形成によってのみ輸送されると考えられる。これらの点は中性アミノ酸とは対照的である。今小腸上皮細胞に, 起電力が低抵抗の短絡路で短路された電氣的等価回路を適用し, 短絡抵抗を小腸壁全体の抵抗 (これは液の電導度に比例している) で近似し, ΔPD_s が Na 電流の増加によってのみ発生すると仮定して Na⁺ のフラックスを求めると, J_s との比は常に一定となり 0.7 の値が得られる。しかし短絡抵抗を大きく見積っている可能性があり, この比はもう少し大きいと考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究はモルモット小腸における糖輸送機能の基本的性質の観察と、特に小腸上皮細胞の刷子縁膜での糖の初期 influx と糖輸送電位の相互の関係を明かにする実験からなっている。

小腸での糖の能動輸送では刷子縁膜における Na^+ 依存性担体機構が本質的に重要な役割を演じていることが知られて来ているが、従来の研究は糖フラックスに対する外液 Na^+ 濃度の影響の解析が主であった。しかし Na^+ の動きに対する糖の影響の研究も不可欠であるがこれには電気的手法を用い輸送電位を研究するのが最も有用である。今日輸送電位の発生機構には刷子縁共輸送過程に帰する考えと、細胞内に入った Na^+ が起電性 Na^+ ポンプによって汲み出される際に発生するとの考えがある。本研究では刷子縁膜での糖の初期 influx と輸送電位の関係を明確にすることによって、その点を明かにせんとしたものである。他方従来この分野の研究にはラット、ハムスターが主に用いられて来たが、これら動物は低または無 Na^+ 液に対する耐性が低く、 Na^+ 濃度を大幅に変えて定量的解析を行うのに不適當である。モルモット小腸はその点耐性が強いが従来の観察が少なく、従って本動物の小腸の糖輸送系の基本性質を明かにする必要がある、その観察結果を併せて報告している。

糖輸送系の基本的性質としては、 Na^+ 依存性輸送機構は空腸で低く、回腸に向けて強くなる部位差をまず明かにし、混食動物との差を示した。糖担体には Na^+ 依存性、フロリジン感受性をもつ D-glucose, D-galactose 系と、 Na^+ 依存性を示さない D-fructose 系の 2 種存在すること、前者の Na^+ 依存性は絶対的で、無 Na^+ 液中では細胞内とり込みは全くおこらないことを明かにした。

糖初期 influx と糖輸送電位の関係については、外液の電導度が一定であるときは、両者の比は常に一定で、その比は糖濃度、糖の種類によらぬこと、 Na^+ 濃度を変えた場合は外液の電導度変化のみを補正すると、やはり両者の比は一定となり、その比は前記の比と一致する。小腸壁の電気抵抗は全く外液電導度に比例する。これらの所見から、糖輸送電位は刷子縁膜での糖 influx に直接比例して発生し、細胞間副路による短絡抵抗によって修飾されるものであることを明かにしている。この所見は糖輸送過程における Na^+ の役割、輸送電位の本態を明かにする上で重要な資料となるものである。

以上の点から、本論文は学位論文として充分にその価値があるものと審査した。